

# Le dosage du récepteur circulant de la transferrine : une nouveauté pour quantifier l'érythropoïèse

Méd. et Hyg.  
49, 2041-2045, 1991

par Y. Beguin, M. Loo et G. Fillet (Liège)

Les échanges de fer entre les tissus se font par l'intermédiaire de la transferrine plasmatique qui donne son fer aux cellules grâce à son interaction avec un récepteur membranaire spécifique. Une forme soluble du récepteur de la transferrine a été mise en évidence dans le sang. Son dosage par méthode ELISA représente une excellente mesure quantitative de l'érythropoïèse qui devrait remplacer les méthodes anciennes moins fiables (réticulocytes) et plus complexes (tests au fer marqué).

## Métabolisme du fer

Les échanges de fer entre l'organisme et l'environnement sont très limités. A part les pertes menstruelles, l'excrétion de fer est limitée à une perte obligatoire non régulée d'environ 1 mg/j. Par ailleurs, l'absorption du fer (environ 1 mg/j), dépend de nombreux facteurs comme la composition de l'alimentation, l'intégrité de la surface absorbative du tube digestif, le niveau d'érythropoïèse et l'état des réserves de fer de l'organisme.

Le circuit principal du fer dans l'organisme consiste en la captation du fer par les cellules érythroïdes immatures de la moelle osseuse qui l'incorporent dans l'hémoglobine, la mise en circulation des globules rouges, et leur destruction finale par le système réticulo-endothélial qui relargue le fer sur la transferrine circulante (8, 12). Un deuxième circuit consiste en la captation du fer de la transferrine plasmatique par les tissus parenchymateux et surtout par l'hépatocyte (8, 12). Les cellules du système réticulo-endothélial (macrophages, cellules de Kupffer du foie...) et les hépatocytes sont les cellules de réserve où le fer est stocké sous la forme de ferritine et d'hémosidérine (12).

Les échanges de fer entre les différents tissus de l'organisme se font par l'intermédiaire de la transferrine, une protéine de 80 000 daltons dont le gène est situé sur le chromosome 3 et qui est surtout produite par l'hépatocyte (8). La transferrine possède deux sites de fixation du fer et elle peut donc prendre la forme de transferrine diférique (2 atomes de fer fixés), transferrine monoférique (1 atome de fer) et d'apotransferrine (pas de fer). La captation du fer par les cellules se réalise par l'interaction de la transferrine avec un récepteur membranaire spécifique, le récepteur de la transferrine (8). Ce récepteur a une affinité quatre fois plus importante pour la transferrine diférique que pour la transferrine monoférique (8). Après fixation de la transferrine sur son récepteur, le complexe récepteur-transferrine pénètre dans le cytoplasme, le fer est libéré à la suite de la chute du pH dans la vésicule endosomique, le récepteur retourne ensuite à la membrane cellulaire et l'apotransferrine est libérée intacte dans le plasma (8).

Pratiquement toutes les cellules de l'organisme possèdent des récepteurs pour la transferrine à leur surface mais le plus grand nombre de récepteurs se trouve au niveau des précurseurs érythroïdes de la moelle osseuse (environ 80% des récepteurs de l'organisme), des hépatocytes et du placenta (8). Comme la quantité de fer capté par chaque tissu dépend de son nombre de récepteurs, la moelle érythropoïétique capte environ 80% du fer plasmatique.

Dans les circonstances normales, environ 1/3 des récepteurs de la transferrine sont à la surface de la cellule, les 2/3 restant étant dans les vésicules endosomiales à l'intérieur de la cellule

(8). Le nombre de récepteurs par cellule peut être modifié soit en altérant la distribution des récepteurs entre la surface et l'intérieur de la cellule, soit en modifiant la synthèse des récepteurs. L'élément le plus important pour la vitesse de synthèse du récepteur de la transferrine est la quantité de fer disponible à l'intérieur de la cellule : lorsque la cellule manque de fer, elle augmente la production et l'expression du récepteur, tandis que lorsqu'elle est surchargée en fer, elle diminue sa synthèse de récepteurs (8).

## Mesures quantitatives de l'érythropoïèse : test au fer marqué

La méthode de choix pour mesurer l'activité érythropoïétique de la moelle osseuse est la mesure du renouvellement plasmatique du fer par le test au fer marqué (3, 8). Celui-ci consiste en la mesure de la vitesse de disparition du plasma d'une dose traceuse du fer radioactif injecté par voie *i.v.* (3). A partir de la demi-vie de la courbe de disparition du fer radioactif, de la mesure du fer sérique et de l'hématocrite, il est possible d'obtenir ce que l'on appelle le renouvellement du fer plasmatique ou «Plasma Iron Turnover» (PIT) (3). Cette mesure est valide parce que d'une part environ 80% du fer plasmatique sont captés par la moelle érythropoïétique et que d'autre part la captation du fer par les autres tissus reste relativement constante par rapport à la captation du fer par la moelle qui peut varier considérablement selon les pathologies anémiques.

Des modèles complexes du métabolisme du fer ont été proposés pour interpréter de façon plus précise la quantification de l'érythropoïèse par le test au fer (3). Ces modèles requièrent cependant des prises de sang répétées sur une période de 15 jours et des calculs mathématiques extrêmement compliqués. De plus, ces modèles se basent sur un certain nombre de présumptions dont il est parfois difficile de démontrer la validité (13). Plus récemment, une méthode simplifiée de mesure de l'activité érythropoïétique de la moelle par test au fer a été proposée (4). Elle permet, à partir de la mesure standard du PIT, de tenir compte de la captation du fer par les tissus non érythroïdes, de prendre en considération l'affinité préférentielle du récepteur pour la transferrine diférique par rapport à la transferrine monoférique (dont les proportions dans le sang varie en fonction du niveau du fer sérique) pour obtenir une mesure précise de l'activité érythropoïétique globale sous la forme de «Erythron Transferrin Uptake» (ETU). La mesure de l'ETU constituait jusque récemment la méthode la plus précise pour quantifier l'érythropoïèse (3, 4).

## Le récepteur soluble de la transferrine

### 1. Physiologie

Le récepteur de la transferrine a récemment été mis en évidence sous une forme soluble dans le plasma aussi bien chez l'homme que chez le rat (1, 7, 9, 10). Le récepteur semble d'abord être externalisé dans de petites vésicules qui ont été mises en évidence dans le sang de plusieurs espèces animales et de l'homme (11). Le récepteur soluble serait séparé de la membrane de ces vésicules par clivage protéolytique libérant la portion extracellulaire du récepteur et laissant ses portions cytoplasmique et transmembranaire (13). Il a été également démontré que le récepteur soluble circulait dans le sérum sous la

forme d'un complexe récepteur-transferrine. La proportion de la transferrine plasmatique fixant du récepteur est cependant très faible, de l'ordre de 0,05 à 0,25% (1, 7).

Des RIA et ELISA ont été mis au point pour doser le récepteur de la transferrine dans le sérum ou le plasma (1, 6, 7, 8). Les études réalisées ont permis de démontrer que la quantité totale de récepteur soluble présent dans le sérum représentait de 6 à 10% de la quantité totale de récepteur membranaire de l'organisme. Cela s'est vérifié aussi bien chez les sujets normaux que dans des situations pathologiques de perturbation du métabolisme du fer ou d'anémie. La libération du récepteur membranaire dans le plasma semble survenir lors de la maturation des précurseurs érythrocytaires de la moelle osseuse en globules rouges mûrs qui d'ailleurs ne possèdent plus du tout de récepteur (1).

Le devenir du récepteur après sa libération dans le plasma, et notamment ses sites de catabolisme, ne sont pas connus. Une forte corrélation a cependant été mise en évidence entre le taux de récepteur circulant et la vitesse de libération du fer de réserve de l'hépatocyte (2). Lorsque les besoins en fer de l'organisme augmentent (érythropoïèse accrue) ou les réserves s'épuisent (état ferriprive), la libération du fer de réserve et son absorption digestive s'accroissent. Lorsque l'érythropoïèse est réduite ou les réserves surchargées, l'absorption et la libération du fer se réduisent. Dans le premier cas, le taux de récepteur circulant augmente, dans le second cas, il diminue. Le récepteur de la transferrine serait-il le messager responsable de cette régulation du métabolisme du fer ?

## 2. Récepteur soluble de la transferrine et érythropoïèse

La mesure du taux de récepteur de la transferrine circulant chez des sujets normaux ainsi que chez des patients présentant une érythropoïèse soit hypoplasique, soit hyperplasique, est présentée dans le tableau 1 (7). Le niveau de récepteur chez des sujets normaux est de  $4\,960 \pm 1\,070$  (moyenne  $\pm$  DS) ng/ml de sérum, avec des valeurs extrêmes allant de 2 900 à 7 100 ng/ml. Lorsque l'érythropoïèse est diminuée, comme dans l'anémie aplastique, l'anémie de l'insuffisance rénale chronique, ou encore après chimiothérapie intensive, le taux de récepteur circulant diminue à des valeurs de l'ordre de 40 à 60% des valeurs normales. Par contre, lorsque l'érythropoïèse est stimulée, comme cela se retrouve dans les anémies hémolytiques auto-immunes ou héréditaires ou encore dans les thalassémies, le taux de récepteur augmente considérablement jusqu'à atteindre des valeurs 20 fois supérieures à la normale. Lorsqu'on compare la mesure de l'activité érythropoïétique de l'organisme par le test au fer et par le dosage du récepteur de la transferrine, on observe une excellente corrélation entre les deux paramètres (1, 7). Le dosage de récepteur présente cependant un certain nombre d'avantages par rapport au test au fer : il

s'agit d'un dosage sérique pouvant être répété à loisir, il est beaucoup plus facile à réaliser et ne demande pas l'équipement spécial requis pour le test au fer, et enfin il ne nécessite pas l'injection *i.v.* de radioactivité au malade. Sur le plan de la validité de la mesure, il a aussi l'avantage de ne pas être influencé par le niveau du fer sérique qui, lorsqu'il est trop bas ou trop élevé, rend la quantification de l'érythropoïèse par test au fer incorrecte. Il est également moins sujet à erreur expérimentale alors que le test au fer se base sur la mesure de l'hématocrite, du fer sérique et de la vitesse de disparition du fer radioactif du plasma.

Nous avons pu, grâce à la mesure du récepteur de la transferrine soluble, quantifier l'érythropoïèse dans des situations dans lesquelles le test au fer n'est pas réalisable pour des raisons éthiques, comme dans la grossesse. Il a été également possible d'utiliser le dosage du récepteur de la transferrine pour étudier le développement de l'érythropoïèse sur une longue période, par exemple après greffe de moelle osseuse ou au cours du traitement de l'anémie de l'insuffisance rénale chronique par érythropoïétine recombinée. Nous avons ainsi montré que l'activité érythropoïétique était diminuée dans la première partie de la grossesse pour ne se normaliser qu'au début du troisième trimestre, démontrant également que cette anomalie de l'activité érythropoïétique était due à une insuffisance de production d'érythropoïétine. Nous avons également pu montrer que, après greffe de moelle autologue, la récupération érythrocytaire se faisait de façon tout à fait parallèle à la récupération plaquettaire et granulocytaire et que donc l'érythropoïèse dépendait essentiellement de la capacité de régénération de la moelle osseuse. Par contre, après greffe allogénique, la récupération de la lignée rouge se fait de façon beaucoup plus tardive que la récupération plaquettaire et granulocytaire, parce que la production d'érythropoïétine reste insuffisante pendant des mois. Enfin, chez les insuffisants rénaux chroniques traités par érythropoïétine recombinée, il a été montré que le dosage sérique du récepteur de la transferrine était très utile, d'une part pour suivre la réponse à l'érythropoïétine, et d'autre part pour évaluer la probabilité de réponse dès le départ par le dosage effectué avant traitement.

Un modèle très simple d'érythropoïèse peut être proposé, dans lequel la masse globulaire circulante détermine le niveau de production d'érythropoïétine qui, à son tour, stimule l'activité érythropoïétique de la moelle osseuse. De la même façon que le dosage sérique de l'érythropoïétine doit être interprété en fonction de l'hématocrite circulant, il est sans doute plus correct d'interpréter le taux de récepteur circulant en fonction de ce même hématocrite, reflétant ainsi la capacité proliférative de la moelle érythropoïétique en réponse à une stimulation par l'érythropoïétine plutôt que le niveau absolu d'activité érythropoïétique. Il est ainsi possible de montrer que la réponse

Tableau 1. Dosage du récepteur soluble de la transferrine (moyenne  $\pm$  écart type) chez l'homme normal et au cours de pathologies hématologiques

	Valeur absolue	Valeur relative par rapport aux sujets normaux	Valeurs extrêmes
Sujets normaux	$4\,960 \pm 1\,070$	1,0	2 900 - 7 100
Erythropoïèse hypoplasique			
Anémie aplastique	$2\,500 \pm 800$	0,5	1 500 - 4 100
Insuffisance rénale chronique	$3\,220 \pm 1\,440$	0,6	700 - 7 100
Chimiothérapie intensive	$2\,190 \pm 720$	0,4	1 000 - 3 900
Erythropoïèse stimulée			
Anémie hémolytique auto-immune	$16\,180 \pm 5\,750$	3,2	10 040 - 26 300
Sphérocytose héréditaire	$22\,050 \pm 11\,040$	4,4	6 250 - 35 700
$\beta$ -thalassémie	$48\,310 \pm 15\,460$	9,6	20 500 - 98 600

érythropoïétique de la moelle osseuse est normale dans le cas d'une anémie hémolytique mais tout à fait insuffisante dans d'autres situations comme l'insuffisance rénale chronique (où le niveau absolu d'érythropoïèse est inférieur à la normale) ou dans la myélofibrose (où le niveau absolu de l'activité érythropoïétique est plus de deux fois supérieur à la normale).

### 3. Récepteur soluble de la transferrine et état des réserves en fer

Un état ferriprive provoque une augmentation de l'expression du récepteur de la transferrine à la surface des cellules. Il serait donc logique d'observer dans ce type de situation une élévation du taux de récepteur circulant et cela est effectivement le cas (1, 7, 14). Il a ainsi été proposé que l'évaluation du status en fer d'un individu peut être le mieux évalué en utilisant le dosage de la ferritine sérique comme mesure des réserves en fer, le dosage du récepteur soluble de la transferrine comme mesure d'un état ferriprive modéré et le taux d'hémoglobine comme une mesure d'un état ferriprive avancé (14). Cependant, lorsque le taux de récepteur sérique est analysé en fonction du degré d'anémie (en fonction de l'hématocrite), il apparaît que son élévation dans un état ferriprive semble tout à fait appropriée pour le degré de stimulation de la moelle par l'érythropoïétine (7). En d'autres termes, il semble que l'état ferriprive en lui-même n'augmente pas significativement le taux de récepteur circulant au-delà de ce que la stimulation par une production accrue d'érythropoïétine produit déjà. Des études sont cependant actuellement en cours pour déterminer la place du dosage du récepteur soluble de la transferrine dans l'évaluation du status en fer d'une population, pour déterminer si ce dosage peut être utile dans le diagnostic de la carence martiale par rapport aux indices classiques que sont le taux d'hémoglobine, de ferritine sérique, de fer sérique et de capacité de fixation de la transferrine, ou encore de protoporphyrine érythrocytaire.

### 4. Récepteur soluble de la transferrine et cancer

L'expression du récepteur de la transferrine est plus importante à la surface des cellules cancéreuses qu'à la surface des cellules normales correspondantes. Il est donc logique de s'attendre à une élévation du taux sérique de récepteur de la transferrine chez des patients atteints de cancer. Cependant, les dosages effectués chez les patients atteints de tumeur solide, de syndromes myéloprolifératifs (leucémie myéloïde chronique, thrombocythémie essentielle), ou de pathologies lymphoïdes (maladie de Hodgkin, lymphomes malins) sont tout à fait normaux (6, 7). Le taux de récepteur soluble chez des patients atteints de syndromes myélodysplasiques ou de myélofibrose est souvent augmenté, mais ceci correspond à l'hyperplasie érythropoïétique observée dans ces maladies (6, 7). Le taux de récepteur est également fortement augmenté chez les patients atteints de maladie de Vaquez et cela correspond également à l'augmentation de l'activité érythropoïétique qui caractérise cette pathologie (7). Enfin, le taux de récepteur chez des patients atteints de leucémie lymphoïde chronique est également fort augmenté, mais il reste approprié pour le degré d'anémie (6). Il semble donc que la contribution des tumeurs non éry-

throcytaires au taux circulant de récepteur de la transferrine est quantitativement négligeable, et que les seules exceptions sont les maladies cancéreuses dans lesquelles l'activité érythropoïétique est augmentée.

### Remerciements

Nous remercions «Télévie 1990», pour l'octroi d'une bourse de chercheur à Mlle Martine Loo.

### Bibliographie

1. Beguin Y., Huebers H. A., Josephson B. and Finch C. A. : Transferrin receptors in rat plasma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85, 637-640, 1988.
2. Beguin Y., Huebers H. A., Weber G., Eng M. and Finch C. A. : Hepatocyte iron release in rats. *J. Lab. Clin. Med.* 113, 346-354, 1989.
3. Beguin Y., Stray S. M., Cazzola M., Huebers H. A. and Finch C. A. : Ferrokinetic measurement of erythropoiesis. *Acta Haematol.* 79, 121-126, 1988.
4. Cazzola M., Pootrakul P., Huebers H. A., Eng M., Eschbach J. and Finch C. A. : Erythroid marrow function in anemic patients. *Blood* 69, 296-301, 1987.
5. Chitambar C. R. and Zivkovic Z. : Release of soluble transferrin receptor from the surface of human leukemic HL60 cells. *Blood* 74, 602-608, 1989.
6. Flowers C. H., Skikne B. S., Covell A. M. and Cook J. D. : The clinical measurement of serum transferrin receptor. *J. Lab. Clin. Med.* 114, 368-377, 1989.
7. Huebers H. A., Beguin Y., Pootrakul P., Einspahr D. and Finch C. A. : Intact transferrin receptors in human plasma and their relation to erythropoiesis. *Blood* 75, 102-107, 1990.
8. Huebers H. A. and Finch C. A. : The physiology of transferrin and transferrin receptors. *Physiol. Rev.* 67, 520-582, 1987.
9. Kohgo Y., Niitsu Y., Kondo H., Kato J., Tsushima N., Sasaki K., Hirayama M., Numata T., Nishisato T. and Urushizaki I. : Serum transferrin receptor as a new index of erythropoiesis. *Blood* 70, 1955-1958, 1987.
10. Kohgo Y., Nishisato T., Kondo H., Tsushima N., Niitsu Y. and Urushizaki I. : Circulating transferrin receptor in human serum. *Brit. J. Haematol.* 64, 277-281, 1986.
11. Pan B. T. and Johnstone R. M. : Fate of the transferrin receptor during maturation of sheep reticulocytes *in vitro* : selective externalization of the receptor. *Cell* 33, 969-977, 1983.
12. Seligman P. A., Klausner R. D. and Huebers H. A. : Molecular mechanisms of iron metabolism. In : *Molecular basis of blood diseases*, edited by Stamatoyannopoulos G., Nienhuis A. W., Leder P. and Majerus P. W. Philadelphia : W. B. Saunders, p. 219-244, 1987.
13. Shih Y. J., Baynes R. D., Hudson B. G., Flowers C. H., Skikne B. S. and Cook J. D. : Serum transferrin receptor is a truncated form of tissue receptor. *J. Biol. Chem.* 265, 19077-19081, 1990.
14. Skikne B. S., Flowers C. H. and Cook J. D. : Serum transferrin receptor : a quantitative measure of tissue iron deficiency. *Blood* 75, 1870-1876, 1990.

Adresse des auteurs : Dr Y. Beguin, chercheur qualifié du Fonds national de la Recherche scientifique (FNRS), Université de Liège, Département de médecine, Service d'hématologie (Pr G. Fillet), CHU, Sart-Tilman, 4000 Liège, Belgique.

Tiré à part N° 7008

### Summary

Iron transport in the plasma is carried out by transferrin which donates its iron to cells through interaction with a specific membrane receptor. A soluble form of the transferrin receptor has been shown to be present in human plasma. Determination of serum

transferrin receptor levels is a convenient quantitative measurement of total erythropoiesis which should replace older unreliable (reticulocytes) or cumbersome (ferrokinetics) methods.